NORMALWERTE DES PLASMACORTISOLSPIEGELS VOR UND NACH INTRAVENÖSER STIMULATION MIT ACTH (SYNACTHEN) BEI KINDERN

Josef Großhauser

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547022_0022

Aus der Kinderklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. K. Betke

NORMALWERTE DES PLASMACORTISOLSPIEGELS VOR UND NACH INTRAVENÖSER STIMULATION MIT ACTH (SYNACTHEN) BEI KINDERN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Josef G R O S S H A U S E R

aus

Fernmittenhausen

1981

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin

der Universität München

Berichterstatter: ..... Prof. Dr. Knorr .....

Mitberichterstatter: ..... Prof. Dr. Betke .....

Dekan: ..... Prof. Dr. Spann .....

Tag der mündlichen Prüfung: ..... 30. Juli 1981 .....

UNIV. LEIDEN BIBL.

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Dietrich Knorr für die Überlassung des Themas, für die Möglichkeit, die Arbeit in seiner Abteilung durchführen zu können, sowie für sein Verständnis und seine wertvollen Anregungen, die zum Gelingen meiner Dissertation wesentlich beitrugen.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern der Kinderklinik der Universität München, die mir mit Rat und Tat zur Seite standen und mich so in meiner Arbeit wesentlich unterstützten.

INHALTSVERZEICHNIS

EINFÜHRUNG UND ZIELSETZUNG

1. Funktionsteste der Nebennierenrinde im Kindesalter 1
2. Synacthen 2
3. Zielsetzung 3

MATERIAL UND METHODEN

1. Probandenauswahl 4
2. Plasmacortisolbestimmung mittels Radioimmunassay für Cortisol 5

ERGEBNISSE

1. Gruppierung der Cortisolwerte 8
2. Statistische Auswertung mit Hilfe des U-Testes von Wilcoxon, Mann und Whitney, des H-Testes von Kruskal und Wallis und des Dunn-Testes 9

DISKUSSION

1. Darlegung der Ergebnisse 12
2. Vergleich der eigenen Ergebnisse mit früheren Arbeiten 12

ZUSAMMENFASSUNG 15

TABELLEN UND GRAPHISCHE DARSTELLUNGEN

1. Tabellen 17
2. Graphische Darstellungen 26

LITERATURVERZEICHNIS 31

EINFÜHRUNG

1. Funktionsteste der Nebennierenrinde im Kindesalter

Die Zahl der beschriebenen und heute gebräuchlichen Tests zur Prüfung der Nebennierenrindenfunktion ist groß. Erwähnt seien hier nur der Dexamethasonhemmtest, bei dem durch vorabendliche Gabe von Dexamethason die ACTH-Ausschüttung der Hypophyse und somit auch die Aktivität der Nebennierenrinde supprimiert wird, sowie einige der Nebennierenrindenstimulationsteste mit ACTH (8-Stunden-ACTH-Infusionstest, mehrtägiger ACTH-Infusionstest, intramuskulärer Depot-ACTH-Test). Diese Tests erfordern zum Teil erheblichen zeitlichen Aufwand und sind im Säuglings- und Kleinkindesalter in der Regel speziellen Fragestellungen (Unterscheidung zwischen primärer und sekundärer Nebennierenrindeninsuffizienz, Bestimmung der aktuellen Funktionsreserve) vorenthalten.

Zur ersten Orientierung, ob überhaupt eine Nebennierenrindenfunktionsstörung vorliegt, genügt meist der sog. ACTH-Kurztest (1, 2). Dabei wird den Patienten nach vorheriger Entnahme von Venenblut zur Bestimmung des Cortisolausgangswertes 0,25 mg ACTH intravenös injeziert. Nach 60 Minuten erfolgt eine nochmalige Blutentnahme zur Berechnung des Plasmacortisolspiegels nach Stimulation. Dieser Test ist gut standardisiert und auch an Kleinkindern ohne großen zeitlichen und technischen Aufwand durchführbar . Er hat daher rasch Eingang in die Diagnostik von Nebennierenrindenfunktionsstörungen bei Kindern gefunden, da durch ihn bereits mit großer Sicherheit eine Nebennierenrindeninsuffizienz ausgeschlossen bzw. verifiziert werden kann.

Weite Verbreitung fand auch der ACTH-Kurztest in

MATERIAL UND METHODEN

1. Probandenauswahl

Sämtliche Synacthenteste, die in der Kinderklinik der Universität München seit August 1975 bis zum 31. 12. 1978 an Jungen und Mädchen durchgeführt wurden, wurden gesammelt. Die Mehrzahl dieser Kinder wurde unter bestimmten klinischen Fragestellungen in die endokrinologische Abteilung eingewiesen. Bei einer Anzahl von Patienten konnte retrospektiv durch die klinische Untersuchung und Interpretation der Synacthenteste eine Nebennierenrindenfunktionsstörung, meist ein adrenogenitales Syndrom, ausgeschlossen werden.

In die Untersuchung miteinbezogen wurden auch die Synacthenteste, die im Rahmen einer genetischen Beratung an Geschwistern von Kindern mit erwiesenem adrenogenitalen Syndrom durchgeführt wurden, sofern die Werte im Synacthentest im Normbereich lagen und sich klinisch kein Hinweis auf eine Nebennierenrindenfunktionsstörung fand.

Unberücksichtigt blieben Synacthenteste von Kindern, die mit Steroiden oder Cyproteronacetat (Androcur) behandelt wurden.

Das derartig bereinigte Untersuchungskollektiv umfaßte daraufhin noch 167 Jungen und Mädchen im Alter von einer Woche bis 16 Jahren, die hinsichtlich der Nebennierenrindenfunktion weder in der klinischen Untersuchung noch im Synacthentest Auffälligkeiten zeigten.

Aus ethischen Gründen schien es angebracht, diesen Weg zur Erstellung eines Normalkollektivs zu beschreiten, da es sich verbietet, gesunde Kinder ohne klinische Fragestellung dem Synacthentest zu unterziehen.

2. Cortisolbestimmung mittels Radioimmunassay für Cortisol

Die Plasmacortisolwerte wurden mittels Radioimmunassay (8, 9) bestimmt. Diese Methode zeichnet sich gegenüber der fluorimetrischen Bestimmung der 11-Hydroxycorticosteroide nach De Moor (10, 11) durch geringen Bedarf an Blutplasma, was besonders bei Kleinkindern von Bedeutung ist, ausreichende Spezifität, große Präzision und hohe Empfindlichkeit und Praktikabilität aus.

Cortisol ist ein Hapten und besitzt demgemäß keine antigenen Eigenschaften. Erst nach Bindung an Proteine oder Polylysin entwickelt es volle Antigenität. Durch Veresterung mit Bernsteinsäureanhydrid zu Hemisuccinat und Bildung eines gemischten Anhydrids mit Chlorameisensäureisobutylester kann Cortisol an freie Lysinaminogruppen von Proteinen, zum Beispiel Rinderalbumin gekoppelt werden (12). Dieser Cortisol-Hemisuccinyl-Rinderalbumin-Komplex wird heute meist Kaninchen intramuskulär injeziert und so ein Antikörper gegen Cortisol gewonnen.

Mit dem spezifischen Antikörper gegen Cortisol reagieren in geringem Maße auch Corticosteron, 11-Deoxycortisol und 17-Hydroxyprogesteron. Unter physiologischen Bedingungen ist die Konzentration dieser Steroide im Plasma im Vergleich zum Cortisol gering, so daß auf weitere Trennverfahren verzichtet werden kann. Bei gewünschter großer Genauigkeit sowie bei Verdacht auf ein adrenogenitales Syndrom (hohe Plasmakonzentration an 17-Hydroxyprogesteron), muß eines der üblichen Steroidtrennverfahren angewandt werden, um Kreuzreaktionen mit dem Antikörper zu vermeiden. Hierfür eignet sich zum Beispiel die Lösungsmittelverteilung zwischen Tetrachlorkohlenstoff und Wasser zur Abtrennung störender Steroide.

Für den Radioimminassay werden 25 µl der Plasmaprobe mit 100 µl Aqua dest. und 100 µl einer Lösung von ^{3}H-Cortisol mit einer Aktivität von etwa 1300 counts je Minute (zur Berechnung der Wiederfindung) in einem Spritzröhrchen gut gemischt, 30 Minuten inkubiert, mit 4 ml Dichlormethan extrahiert und 5-10 Minuten zentrifugiert. Die Steroide verteilen sich im Dichlormethan, die wäßrige Phase wird abgesaugt und verworfen.

2 ml des Dichlormethanextraktes werden im Luftstrom abgedampft. Daraufhin werden 0,5 ml Phosphatpuffer und 4 ml Tetrachlorkohlenstoff (Abtrennung störender Steroide, siehe oben!) zugegeben, gut geschüttelt und zentrifugiert.

In zwei RIA-Glasröhrchen (Zweifachbestimmung) und ein Szintillationsgefäß (Berechnung der Wiederfindung) werden 100 µl des Pufferextraktes gegeben, dazu 100 µl einer Lösung von ^{3}H-Cortisol mit einer Aktivität von 10000-14000 counts je Minute und 500 µl des Antikörpers (in einer Verdünnung von 1 : 8000, um eine etwa 50 %-ige Cortisol- Antikörper-Bindung zu erreichen). Nach gutem Schütteln wird das Gemisch für circa 2 Stunden im Eiswasser inkubiert.

Danach Zugabe von 500 µl dextranbeschichteter Holzkohle zur Adsorption des ungebundenen Cortisols. Nach nochmaligem Schütteln werden die Proben erneut in Eiswasser gestellt und anschließend bei 4 °C 10 Minuten lang zentrifugiert.

Der Überstand wird in Szintillationsgefäße dekantiert und mit 8 ml Szintillationsflüssigkeit versetzt. In einem Flüssigkeitsszintillationszähler (beta-Zählgerät) wird die Aktivität des Überstandes gemessen.

Bei jeder Probenserie muß eine Eichkurve erstellt werden. Dazu werden Probenansätze mit bekannten Cortisolmengen (0 pg, 50 pg, 100 pg, 200 pg, 400 pg, 600 pg, 800 pg, 1000 pg) hergestellt und deren Aktivität im Flüssig-

keitsszintillationszähler registriert. Durch Auftragen dieser bekannten Cortisolmengen gegen die gemessene Aktivität erhält man eine Eichkurve, aus der die Cortisolkonzentration der Plasmaprobe abgelesen werden kann.

Nach Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor und Division mit der Wiederfindung zum Ausgleich des Steroidverlustes im Extraktions- und Eindampfungsverfahren erhält man die Cortisolkonzentration in µg/dl.

Diese Bestimmungsmethodik war zu Beginn des Jahres 1971 im endokrinologischen Labor der Universitätskinderklinik eingeführt worden und wurde während des gesamten Zeitraums, in dem die Probanden untersucht wurden, unverändert beibehalten. Somit sind die gewonnenen Befunde über den betreffenden Zeitraum miteinander vergleichbar.

ERGEBNISSE

1. Gruppierung der Cortisolwerte

Die Cortisolsekretion der Nebennierenrinde weist erhebliche tageszeitliche Schwankungen auf (13). Dabei ist der periphere Cortisolspiegel morgens zwischen 6-8 Uhr am höchsten, sinkt im Laufe des Tages langsam ab und erreicht etwa um Mitternacht bis 3 Uhr morgens ein Minimum.

Da es sich bei dem Großteil der Kinder um ambulante Patienten handelt, die entsprechend den zeitlichen Möglichkeiten einer Klinik auch nachmittags zur Untersuchung und Blutentnahme einbestellt wurden, erschien es sinnvoll, neben der Unterteilung in Jungen und Mädchen auch noch weiter in Cortisolwerte bei Blutabnahme vor 10 Uhr und Cortisolwerte bei Blutabnahme nach 10 Uhr zu untergliedern.

Zur besseren Übersicht wurden die Kinder entsprechend ihres Alters in Gruppen zusammengefaßt.

Gruppe I: 0-4 Jahre
Gruppe II: 4-8 Jahre
Gruppe III: 8-12 Jahre
Gruppe IV: 12-16 Jahre

Die Abb. 1-4 (siehe: TABELLEN UND GRAPHISCHE DARSTELLUNGEN) zeigen die Cortisolwerte der Jungen und Mädchen gemäß der oben erwähnten Einteilung. In den Tab. 1-4 sind die dazugehörigen Werte aufgeführt.

Abb. 5 und Tab. 5 zeigen die Cortisolwerte im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest.

Als Normalbereich wurden approximativ die Werte zwischen der 10. und 90. Percentile gewählt. Die Medianwerte sind besonders gekennzeichnet.

2. Statistische Auswertung mit Hilfe des U-Testes von Wilcoxon, Mann und Whitney, des H-Testes von Kruskal und Wallis und des Dunn-Testes

Mit Hilfe des U-Testes von Wilcoxon, Mann und Whitney (Vergleich zweier unabhängiger Stichproben) wurde im ersten Arbeitsschritt geprüft, ob in den einzelnen Altersgruppen ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Cortisolwerten der Jungen und Mädchen besteht.

Der U-Test (14) ist empfindlich gegenüber Medianunterschieden und prüft die Alternativhypothese. Ist die im Test errechnete Prüfgröße (errechneter U-Wert) größer als die kritische Prüfgröße (kritischer U-Wert), so wird die Alternativhypothese verworfen und die Nullhypothese beibehalten, d. h. es besteht statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Stichproben.

Der errechnete U-Wert war in jeder Altersgruppe größer als der kritische U-Wert (Tab. 6 und 7). Statistisch konnte somit auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit kein signifikanter Unterschied zwischen den Cortisolwerten der Jungen und Mädchen gesichert werden.

Das bestätigte sich auch bei den Kindern, die dem Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest unterzogen wurden (Tab. 8).

Die Cortisolwerte der Jungen und Mädchen wurden daraufhin zusammengefaßt (Tab. 9 und 10) und gemeinsam aufgetragen (Abb. 6 und 7).

Im zweiten Arbeitsschritt wurde geprüft, ob sich zwischen den Cortisolwerten der einzelnen Altersgruppen ein statistisch signifikanter Unterschied ermitteln läßt.

Mit Hilfe des H-Testes von Kruskal und Wallis (Vergleich mehrerer unabhängiger Stichproben) konnte dar-

gelegt werden, daß alle Werte einer gemeinsamen Grundgesamtheit entstammen.

Der H-Test (15) ist eine Verallgemeinerung des U-Testes und prüft die Alternativhypothese, d. h. die getesteten Stichproben entstammen nicht der gleichen Grundgesamtheit. Ist der errechnete H-Wert kleiner als der innerhalb der gesetzten Signifikanzschranke vorgegebene H-Wert, so wird die Alternativhypothese verworfen und die Nullhypothese beibehalten.

Im vorliegenden Fall lagen sämtliche errechneten H-Werte unter dem auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit vorgegebenen H-Wert, d. h. die Cortisolwerte entstammen einer gemeinsamen Grundgesamtheit (Tab. 11).

Daraufhin wurde mit Hilfe des Dunn-Testes geprüft, ob sich zwischen den Cortisolwerten der einzelnen Altersgruppen auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ein Unterschied feststellen läßt (Tab. 12-14).

Bei Blutabnahme vor 10 Uhr war zwischen den basalen Cortisolwerten der Gruppe II und Gruppe IV ein signifikanter Unterschied vorhanden (Tab. 12).

Im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest ließ sich zwischen den Cortisolwerten nach Stimulation der Gruppe II und Gruppe III ebenfalls eine Signifikanz nachweisen (Tab. 14).

Zwischen den übrigen Altersgruppen konnte statistisch auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit kein signifikanter Unterschied gesichert werden.

Zur Bestätigung der Annahme einer Cortisoltagesrhythmik wurden die basalen Cortisolspiegel bei Blutabnahme vor 10 Uhr und bei Blutabnahme nach 10 Uhr im einseitigen U-Test bei alpha = 0,05 miteinander verglichen (Tab. 15).

In jeder Altersgruppe lag der errechnete U-Wert unter dem kritischen U-Wert. Die Annahme einer Cortisoltagesrhythmik wurde somit bestätigt.

Ein Vergleich der Cortisolspiegel nach Stimulation bei Blutabnahme vor 10 Uhr und bei Blutabnahme nach 10 Uhr konnte auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit in Gruppe I, II, III keinen signifikanten Unterschied sichern, in Gruppe IV war ein signifikanter Unterschied festzustellen (Tab. 16).

DISKUSSION

1. Darlegung der Ergebnisse

Aus Abb. 8 und Tab. 17 läßt sich der Cortisolanstieg der Jungen und Mädchen nach Stimulation mit Synacthen bei Blutabnahme vor 10 Uhr ersehen. Der Cortisolmedianwert steigt von 16,3 µg/dl auf 35,0 µg/dl. Innerhalb der 10. und 90. Percentile betrug der niedrigste individuelle Anstieg 11,9 µg/dl, der größte 28,4 µg/dl.

Abb. 9 und Tab. 17 zeigen den Cortisolanstieg der Jungen und Mädchen im Synacthentest bei Blutabnahme nach 10 Uhr. Die Cortisolbasalwerte liegen hier niedriger als bei Blutabnahme vor 10 Uhr. Der Cortisolmedianwert steigt von 8,6 µg/dl auf 32,3 µg/dl. Es wurden individuelle Anstiege der Cortisolkonzentrationen von 16,6 µg/dl bis 32,6 µg/dl beobachtet.

In Abb. 10 und Tab. 17 ist der Cortisolanstieg der Jungen und Mädchen im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest dargestellt. Durch die vorabendliche Gabe von 1 mg Dexamethason/m^2 Körperoberfläche tritt eine starke Suppression der Nebennierenrinde ein (basaler Cortisolwert unter 2,5 µg/dl). Nach intravenöser Injektion von 0,25 mg Synacthen lagen die individuellen Cortisolanstiege zwischen 24,8 µg/dl und 38,2 µg/dl.

Da in einigen Altersgruppen zu wenig Cortisolwerte vorhanden waren, konnte die statistische Auswertung nicht vollständig durchgeführt werden.

2. Vergleich der eigenen Ergebnisse mit früheren Arbeiten

Die Zahl der veröffentlichten Untersuchungen über den

Anstieg des Cortisolspiegels im Synacthentest ist groß (16-25). Diese Arbeiten unterscheiden sich weniger in der Ausführung des Synacthentestes, der gut standardisiert ist, als vielmehr in den Methoden zur Bestimmung der Cortisolkonzentration.

Vor der Einführung der Proteinbindungsmethode und des Radioimmunassays fanden vor allem das colorimetrische Verfahren nach Silber-Porter, die Messung der sog. Silber-Porter-Chromogene (16) und fluorimetrische Methoden (10, 11) breite Anwendung. Die nötigen Plasmamengen zur Bestimmung des Plasmacortisolspiegels mit Hilfe dieser Verfahren sind aber bei Kleinkindern nur schwer zu gewinnen, so daß vielfach auf die Cortisolbestimmung im Urin ausgewichen wurde.

Mit Hilfe der fluorimetrischen Bestimmung der 11-Hydroxycorticosteroide nach Dörner und Stahl (17) ermittelten Knorr und Mitarbeiter (18) bei 30 gesunden Kindern nach intravenöser Gabe von 0,25 mg Synacthen einen Anstieg der 11-OHCS-Ausscheidung im 8-Stunden-Sammelurin (9-17 Uhr) von 8-40 µg auf 100-200 µg. Bei Kindern, die unter langfristiger Corticoidtherapie standen, erfolgte im 8-Stunden-Test keine Mehrausscheidung.

Wiebel und Bierich (4) bedienten sich bei ihrer Untersuchung über die Wirksamkeit von Synacthen der Messung der 17-Hydroxycorticosteroide im Plasma. Sie infundierten 11 Kindern im Alter von 7-15 Jahren 0,25 mg bzw. 0,5 mg Synacthen und fanden zwei Stunden nach Infusionsbeginn einen Anstieg der Plasma-17-Hydroxycorticosteroide von 12,9 µg/dl (Standardabweichung = ±4,3 µg/dl) auf 28,4 µg/dl (Standardabweichung = ±4,1 µg/dl).

Girard und Mitarbeiter untersuchten 1969 den Cortisolanstieg im Synacthentest an 13 Kindern im Alter von 6-15 Jahren. Die erste Blutentnahme erfolgte um 8 Uhr bei Bettruhe. Danach intravenöse Injektion von 0,25 mg Synacthen/1,73 m^2 Körperoberfläche. 30, 60, 90, 120 Minuten

nach der Synactheninjektion wurden erneut Blutproben entnommen. Bei einem Ausgangswert von 17,2 µg/dl (Standardabweichung = ±8,5 µg/dl) fand sich 30 Minuten nach Stimulation ein Wert von 34,5 µg/dl (Standardabweichung = ±7,8 µg/dl). Die Cortisolkonzentration wurde mit Hilfe der fluorimetrischen Methode nach Mattingly (11) ermittelt.

Seit Einführung der Proteinbindungsmethode (19) und des Radioimmunassays zur Cortisolbestimmung wurden zumindest an größeren Kliniken die colorimetrischen und fluorimetrischen Verfahren weitgehend verlassen. Proteinbindungsmethode und Radioimmunassay messen spezifisch Cortisol und zeichnen sich durch hohe Empfindlichkeit aus (20). Für die Cortisolbestimmung im Plasma genügen kleinste Plasmamengen (10 µl bis 100 µl).

Jturzaeta und Mitarbeiter (21) fanden 1970 mit Hilfe der Proteinbindungsreaktion, deren Genauigkeit und Spezifität mit dem Radioimmunassay vergleichbar ist (9), bei 46 Kindern einen basalen Cortisolspiegel von 10,7 µg/dl (Standardabweichung = ±4,8 µg/dl.

Bei Rivarola (22) betrug die Cortisolkonzentration vor Stimulation 11,9 µg/dl. Das Untersuchungskollektiv umfaßte allerdings nur 6 Kinder.

Barnes und Mitarbeiter (23) führten 1972 den Synacthentest an 38 endokrinologisch unauffälligen Kindern durch. Testbeginn war zwischen $8.^{30}$ und $9.^{30}$ Uhr. Die Cortisolkonzentration stieg von 18,3 µg/dl auf 39,3 µg/dl.

Bei gesunden Erwachsenen scheinen die Cortisolwerte 60 Minuten nach Stimulation mit 0,25 mg Synacthen niedriger zu liegen als bei Kindern. So ergab bei Geisthövel und Kley (24) eine Auswertung von 40 Nebennierenrindenstimulationstesten gesunder Männer und Frauen einen Cortisolanstieg von etwa 12 µg/dl auf circa 28 µg/dl.

Kley (25) fand 1976 bei 40 gesunden Erwachsenen einen Anstieg von etwa 11 µg/dl auf circa 28 µg/dl.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden Synacthenteste von insgesamt 167 Jungen und Mädchen im Alter von einer Woche bis 16 Jahren, die in der Zeit zwischen August 1975 und Dezember 1978 an der Universitätskinderklinik München untersucht wurden, ausgewertet.

Allen diesen Kindern war nach einer Blutentnahme zur Bestimmung der Cortisolausgangskonzentration 0,25 mg Synacthen intravenös injeziert worden. Nach einer Stunde erfolgte eine erneute Blutentnahme zur Bestimmung der Cortisolkonzentration nach Stimulation mit synthetischem ACTH (Synacthen).

Ein Teil der Kinder erhielt am Vorabend der Untersuchung 1 mg Dexamethason/m^2 Körperoberfläche zur Suppression der Nebennierenrinde.

Zur Bestimmung der Cortisolkonzentration im Blutplasma wurde ein spezifischer Radioimmunassay eingesetzt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des U-Testes von Wilcoxon, Mann und Whitney, des H-Testes von Kruskal und Wallis und des Dunn-Testes auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit.

Es ließ sich weder bei den basalen Cortisolwerten noch bei den Werten nach Stimulation ein signifikanter Geschlechtsunterschied nachweisen. Innerhalb der einzelnen Altersgruppen (0-4, 4-8, 8-12 und 12-16 Jahre) wurden nur angedeutete Unterschiede zwischen den basalen Cortisolwerten der Gruppe II und Gruppe IV bei Blutabnahme vor 10 Uhr sowie im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest zwischen den Cortisolwerten nach Stimulation der Gruppe II und Gruppe III gefunden.

Hochsignifikante Unterschiede bestehen zwischen den basalen Cortisolwerten bei Blutabnahme vor und nach 10 Uhr (basale Cortisolmedianwerte von 16,3 µg/dl bzw. 8,6 µg/dl). Bei den Cortisolwerten nach Stimulation ergibt sich diese Zeitabhängigkeit nur in Gruppe IV.

Nach Dexamethasongabe am Vorabend der Untersuchung sind bei gesunden Kindern die morgendlichen Cortisolspiegel auf Werte unter 2,5 µg/dl supprimiert. Nach Stimulation mit Synacthen erfolgt ein regulärer Anstieg der Cortisolkonzentration im Blutplasma.

TABELLEN UND GRAPHISCHE DARSTELLUNGEN

1. Tabellen

	Anzahl d. Fälle	basaler Cortisolspiegel 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.	Cortisolspiegel n. Stimulation 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.
Gruppe I (o-4 J.)	6	10,8	14,9	18,4	31,3	36,9	40,4
Gruppe II (4-8 J.)	12	10,6	16,3	21,1	26,8	33,3	45,7
Gruppe III (8-12 J.)	24	12,8	15,9	23,8	26,4	34,3	45,0
Gruppe IV (12- 16 J.)	15	12,7	18,7	24,0	29,0	34,9	39,8

Tab. 1: Plasmacortisolwerte der Mädchen in /ug/dl bei Blutabnahme vor 10 Uhr

	Anzahl d. Fälle	basaler Cortisolspiegel 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.	Cortisolspiegel n. Stimulation 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.
Gruppe I (0-4 J.)	3	14,3	14,5	21,0	35,4	43,0	50,0
Gruppe II (4-8 J.)	8	10,0	13,1	17,5	27,0	33,8	41,0
Gruppe III (8-12 J.)	7	16,4	19,0	22,0	29,6	38,5	45,3
Gruppe IV (12-16 J.)	7	16,1	20,2	23,0	30,0	38,0	44,5

Tab. 2: Plasmacortisolwerte der Jungen in /ug/dl bei Blutabnahme vor 10 Uhr. In Gruppe I sind alle Werte aufgetragen.

	Anzahl d. Fälle	basaler Cortisolspiegel 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.	Cortisolspiegel n. Stimulation 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.
Gruppe I (0-4 J.)	1		7,5			32,4	
Gruppe II (4-8 J.)	10	4,5	6,8	9,8	25,7	31,0	45,8
Gruppe III (8-12 J.)	15	5,0	8,2	10,9	28,9	31,3	38,0
Gruppe IV (12-16 J.)	13	5,4	9,3	14,0	25,6	30,7	37,0

Tab. 3: Plasmacortisolwerte der Mädchen in µg/dl bei Blutabnahme nach 10 Uhr. In Gruppe I ist nur ein Wert vorhanden.

	Anzahl d. Fälle	basaler Cortisolspiegel 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.	Cortisolspiegel n. Stimulation 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.
Gruppe I (0-4 J.)	1		5,1			39,2	
Gruppe II (4-8 J.)	5	8,6	11,3	12,4	32,3	33,4	45,0
Gruppe III (8-12 J.)	7	5,2	9,7	13,8	28,2	33,0	36,0
Gruppe IV (12-16 J.)	7	8,3	13,9	14,4	25,0	34,0	38,0

Tab. 4: Plasmacortisolwerte der Jungen in µg/dl bei Blutabnahme nach 10 Uhr. In Gruppe I ist nur ein Wert vorhanden.

	Anzahl d. Fälle	basaler Cortisolspiegel 10. Perc.	Me-dian	90. Perc.	Cortisolspiegel n. Stimulation 10. Perc.	Me-dian	90. Perc.
Gruppe I (0-4 J.)	1		0,8			25,6	
Gruppe II (4-8 J.)	3	0,8	1,0	2,6	25,3	29,0	30,0
Gruppe III (8-12 J.)	11	0,7	1,4	2,0	27,1	36,4	41,3
Gruppe IV (12-16 J.)	11	0,5	1,1	1,3	26,0	31,6	34,7

Tab. 5: Plasmacortisolwerte der Jungen und Mädchen im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest in µg/dl. In Gruppe I und Gruppe II sind alle Werte aufgetragen.

	Fall-zahlen m	n	krit. U-Wert	Errechneter U-Wert basaler Cortisolspiegel	Cortisolspiegel n. Stimulation
Gruppe I	6	3	1	7,5	4,0
Gruppe II	12	8	19	29,5	47,5
Gruppe III	24	7	42	59,5	70,5
Gruppe IV	15	7	24	48,0	48,0

Tab. 6: Prüfung auf Unterschiede im Cortisolspiegel der Jungen und Mädchen bei Blutabnahme vor 10 Uhr. mit Hilfe des U-Testes von Wilcoxon, Mann und Whitney.
Alle errechneten U-Werte lagen höher als die kritischen U-Werte. Somit konnte auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den Cortisolwerten der Jungen und Mädchen gesichert werden.

	Fall-zahlen		krit.	Errechneter U-Wert	
	m	n	U-Wert	basaler Cortisolspiegel	Cortisolspiegel n. Stimulation
Gruppe I	1	1			
Gruppe II	10	5	8	13	19
Gruppe III	15	7	24	37	52
Gruppe IV	13	7	20	29	36

Tab. 7: Prüfung auf Unterschiede im Cortisolspiegel der Jungen und Mädchen bei Blutabnahme nach 10 Uhr mit Hilfe des U-Testes von Wilcoxon, Mann und Whitney. Gruppe I konnte nicht getestet werden, da bei Jungen und Mädchen nur je ein Wert vorhanden ist.
Alle errechneten U-Werte lagen höher als die kritischen U-Werte. Somit konnte auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den Cortisolwerten der Jungen und Mädchen gesichert werden.

	Fall-zahlen		krit.	Errechneter U-Wert	
	m	n	U-Wert	basaler Cortisolspiegel	Cortisolspiegel n. Stimulation
Gruppe I	0	1			
Gruppe II	3	0			
Gruppe III	7	4	3	7,5	10
Gruppe IV	8	3	2	11,5	11

Tab. 8: Prüfung auf Unterschiede im Cortisolspiegel der Jungen und Mädchen im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest mit Hilfe des U-Testes von Wilcoxon, Mann und Whitney. Gruppe I und Gruppe II konnten nicht getestet werden.
Alle errechneten U-Werte lagen höher als die kritischen U-Werte. Somit konnte auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den Cortisolwerten der Jungen und Mädchen gesichert werden.

	Anzahl d. Fälle	basaler Cortisolspiegel 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.	Cortisolspiegel n. Stimulation 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.
Gruppe I (0-4 J.)	9	10,8	14,5	21,0	31,3	39,7	45,0
Gruppe II (4-8 J.)	20	10,6	15,3	19,3	26,8	33,3	45,7
Gruppe III (8-12 J.)	31	13,1	16,4	23,2	27,0	34,3	45,0
Gruppe IV (12-16 J.)	22	12,7	18,7	24,0	28,7	37,0	45,0

Tab. 9: Normalwerte des Plasmacortisolspiegels bei Blutabnahme vor 10 Uhr. Werte der Jungen und Mädchen zusammengefaßt.

	Anzahl d. Fälle	basaler Cortisolspiegel 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.	Cortisolspiegel n. Stimulation 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.
Gruppe I (0-4 J.)	2	5,1		7,5	32,4		39,2
Gruppe II (4-8 J.)	15	4,7	8,5	12,4	28,4	32,3	45,0
Gruppe III (8-12 J.)	22	4,5	8,6	13,8	27,7	31,8	38,0
Gruppe IV (12-16 J.)	20	6,3	9,3	14,4	25,0	32,7	38,0

Tab. 10: Normalwerte des Plasmacortisolspiegels bei Blutabnahme nach 10 Uhr. Werte der Jungen und Mädchen zusammengefaßt. In Gruppe I sind alle Werte eingezeichnet.

	Freiheitsgrade	Vorgegebener H-Wert	Errechneter H-Wert: Basaler Cortisolspiegel	Errechneter H-Wert: Cortisolspiegel n. Stimulation
Cortisolwerte bei Blutabnahme vor 10 Uhr	3	7,815	5,937	2,098
Cortisolwerte bei Blutabnahme nach 10 Uhr	3	7,815	4,430	2,226
Cortisolwerte im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest	2	5,992	0,337	4,120

Tab. 11: Prüfung auf Zugehörigkeit der Cortisolwerte zu einer gemeinsamen Grundgesamtheit mit Hilfe des H-Testes von Kruskal und Wallis.
Alle errechneten H-Werte liegen unter den auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit vorgegebenen H-Werten. Die Cortisolwerte entstammen somit einer gemeinsamen Grundgesamtheit.

	Basaler Cortisolspiegel		Cortisolspiegel n. Stimulation	
	errechnet. z-Wert	entsprech. alpha-Wert	errechnet. z-Wert	entsprech. alpha-Wert
I geg. II	0,314	0,749	1,441	0,150
I geg. III	1,001	0,312	1,153	0,250
I geg. IV	1,401	0,159	1,031	0,303
II geg. III	1,762	0,078	0,494	0,624
II geg. IV	2,202	0,028	0,552	0,582
IV geg. III	0,628	0,529	0,103	0,920

Tab. 12: Prüfung auf Unterschiede der Cortisolspiegel innerhalb der einzelnen Altersgruppen bei Blutabnahme vor 10 Uhr mit Hilfe des zweiseitigen Dunn-Testes.
Bei den basalen Cortisolwerten der Gruppe II gegen die der Gruppe IV ergab sich auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ein statistisch signifikanter Unterschied.

	Basaler Cortisolspiegel		Cortisolspiegel n. Stimulation	
	errechnet. z-Wert	entsprech. alpha-Wert	errechnet. z-Wert	entsprech. alpha-Wert
I geg. II	0,934	0,352	0,583	0,562
I geg. III	0,961	0,337	0,890	0,373
I geg. IV	1,569	0,110	1,132	0,258
II geg. III	0,200	0,841	0,651	0,516
II geg. IV	1,410	0,159	1,172	0,242
IV geg. III	1,535	0,126	0,590	0,555

Tab. 13: Prüfung auf Unterschiede der Cortisolspiegel innerhalb der einzelnen Altersgruppen bei Blutabnahme nach 10 Uhr mit Hilfe des zweiseitigen Dunn-Testes.
Bei Blutabnahme nach 10 Uhr ergab sich zwischen den Cortisolwerten der einzelnen Altersgruppen auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit statistisch kein signifikanter Unterschied.

	Basaler Cortisolspiegel		Cortisolspiegel n. Stimulation	
	errechnet. z-Wert	entsprech. alpha-Wert	errechnet. z-Wert	entsprech. alpha-Wert
II geg. III	0,666	0,503	1,976	0,048
II geg. IV	0,304	0,764	1,265	0,208
IV geg. III	0,566	0,569	1,087	0,276

Tab. 14: Prüfung auf Unterschiede der Cortisolspiegel innerhalb der einzelnen Altersgruppen im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest mit Hilfe des zweiseitigen Dunn-Testes.
Gruppe I konnte nicht getestet werden, da nur ein Wert vorhanden ist.
Bei den Cortisolwerten nach Stimulation der Gruppe II gegen die der Gruppe III ergab sich auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ein statistisch signifikanter Unterschied.

	Fallzahlen m	n	Kritischer U-Wert	Errechneter U-Wert
Gruppe I	9	2	1	0
Gruppe II	20	15	100	29,5
Gruppe III	31	22	249	26,0
Gruppe IV	22	20	154	39,0

Tab. 15: Prüfung der Annahme einer Cortisoltagesrhythmik durch Vergleich der basalen Cortisolwerte bei Blutabnahme vor 10 Uhr gegen die bei Blutabnahme nach 10 Uhr im einseitigen U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney.
In jeder Altersgruppe lag der errechnete U-Wert unter dem auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit vorgegebenen, kritischen U-Wert. Die Annahme einer Cortisoltagesrhythmik wurde somit bestätigt.

	Fallzahlen m	n	Kritischer U-Wert	Errechneter U-Wert
Gruppe I	9	2	0	6,0
Gruppe II	20	15	90	148,5
Gruppe III	31	22	232	250,0
Gruppe IV	22	20	141	133,5

Tab. 16: Vergleich der Cortisolspiegel nach Stimulation bei Blutabnahme vor 10 Uhr gegen die nach 10 Uhr mit Hilfe des zweiseitigen U-Testes von Wilcoxon, Mann und Whitney.
In Gruppe I, II und III lagen die errechneten U-Werte über den kritischen U-Werten, in Gruppe IV dagegen unter dem kritischen U-Wert.
Auf dem Niveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit konnte somit statistisch nur zwischen den Cortisolwerten der Gruppe IV ein signifikanter Unterschied gesichert werden.

	Anzahl d. Fälle	Basaler Cortisolspiegel 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.	Cortisolspiegel n. Stimulation 10. Perc.	Me- dian	90. Perc.
Cortisolwerte bei Blutabnahme vor 10 Uhr	82	12,0	16,3	23,3	27,0	35,0	45,3
Cortisolwerte bei Blutabnahme nach 10 Uhr	59	4,7	8,6	14,1	25,7	32,3	41,6
Cortisolwerte im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest	26	0,7	1,1	2,0	25,8	31,8	40,0

Tab. 17: Anstieg der Plasmacortisolwerte (in µg/dl) im Synacthenkurztest. Werte der Jungen und Mädchen zusammengefaßt.

2. Graphische Darstellungen

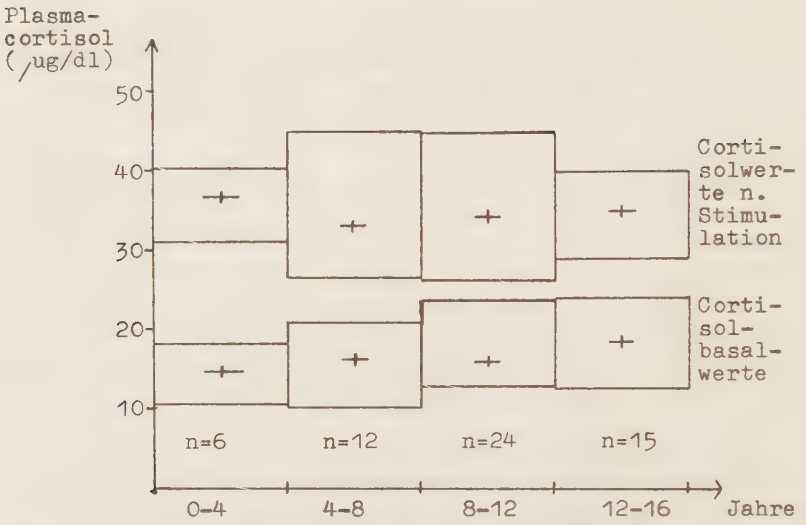

Abb. 1: Plasmacortisolwerte der Mädchen bei Blutabnahme vor 10 Uhr unter Berücksichtigung der 10. und 90. Perc. und besonderer Kennzeichnung des Medianwertes

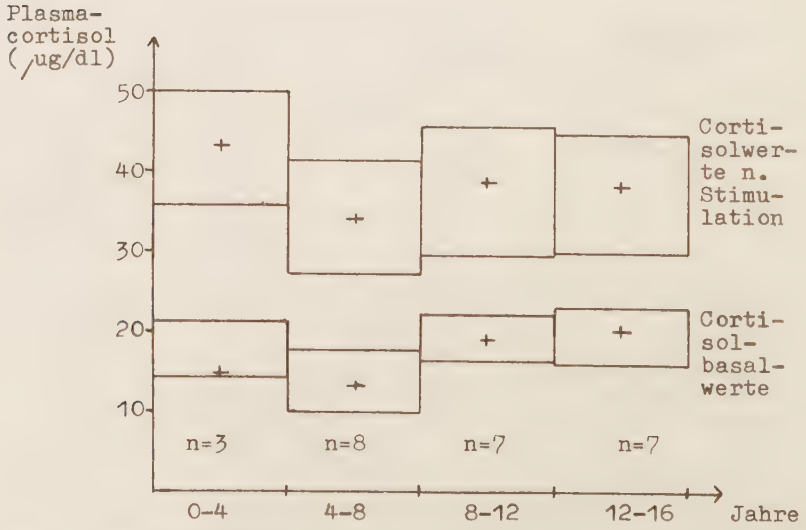

Abb. 2: Plasmacortisolwerte der Jungen bei Blutabnahme vor 10 Uhr unter Berücksichtigung der 10. und 90. Perc. und besonderer Kennzeichnung des Medianwertes. In Gruppe I sind alle Werte eingetragen.

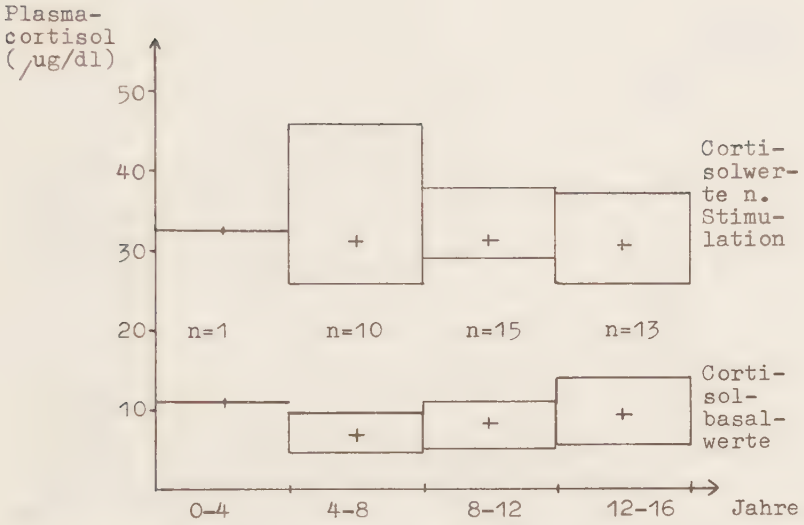

Abb. 3: Plasmacortisolwerte der Mädchen bei Blutabnahme nach 10 Uhr unter Berücksichtigung der 10. und 90. Perc. und besonderer Kennzeichnung des Medianwertes. In Gruppe I ist nur ein Wert vorhanden.

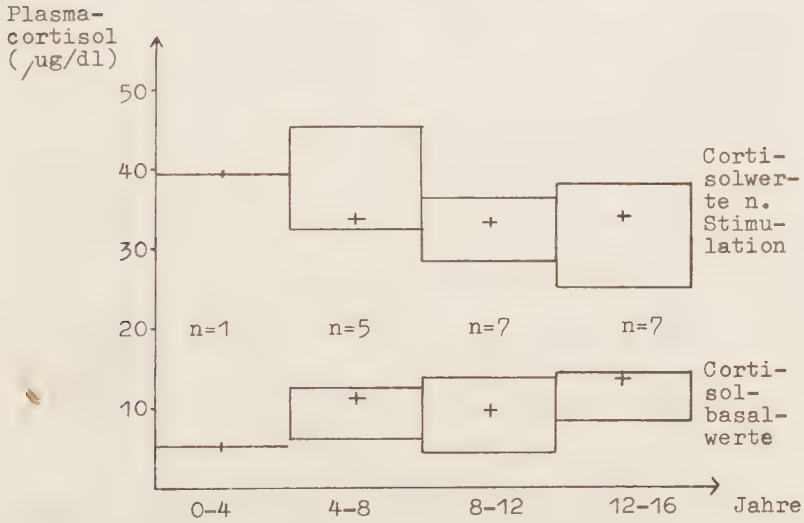

Abb. 4: Plasmacortisolwerte der Jungen bei Blutabnahme nach 10 Uhr unter Berücksichtigung der 10. und 90. Perc. und besonderer Kennzeichnung des Medianwertes. In Gruppe I ist nur ein Wert vorhanden.

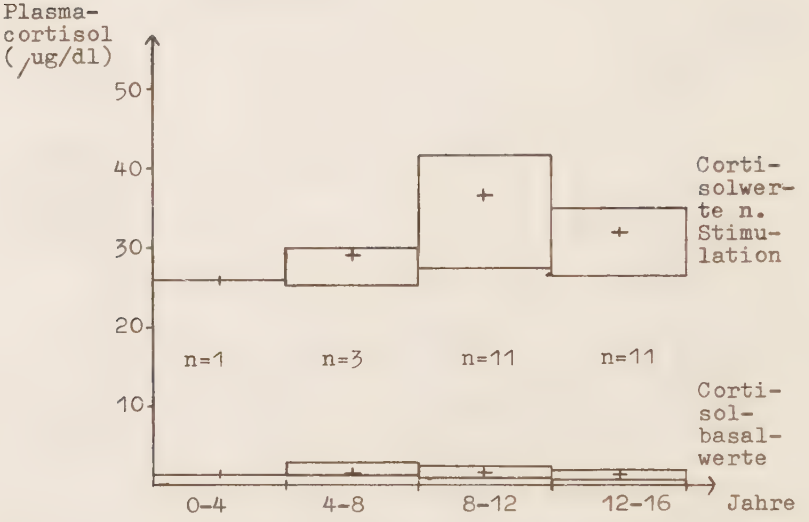

Abb. 5: Plasmacortisolwerte der Jungen und Mädchen im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest unter Berücksichtigung der 10. und 90. Perc. und besonderer Kennzeichnung des Medianwertes. In Gruppe I und II sind alle Werte aufgetragen.

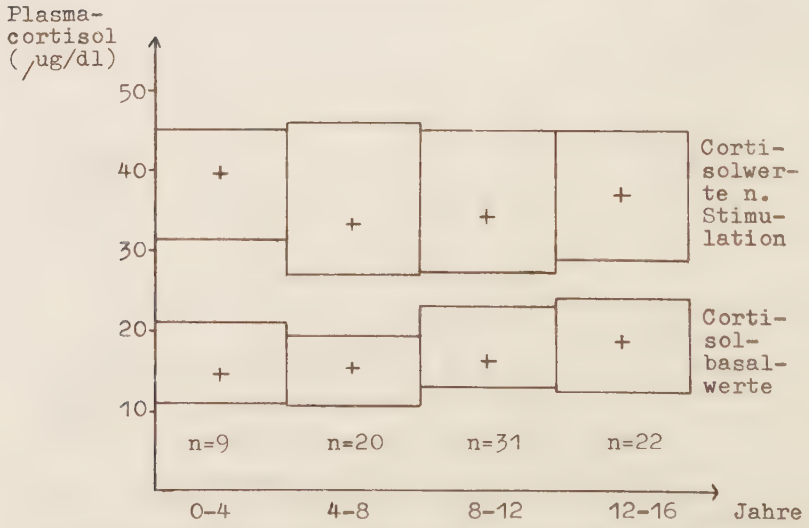

Abb. 6: Plasmacortisolwerte bei Blutabnahme vor 10 Uhr unter Berücksichtigung der 10. und 90. Perc. und besonderer Kennzeichnung des Medianwertes. Die Cortisolwerte der Jungen und Mädchen sind zusammengefaßt.

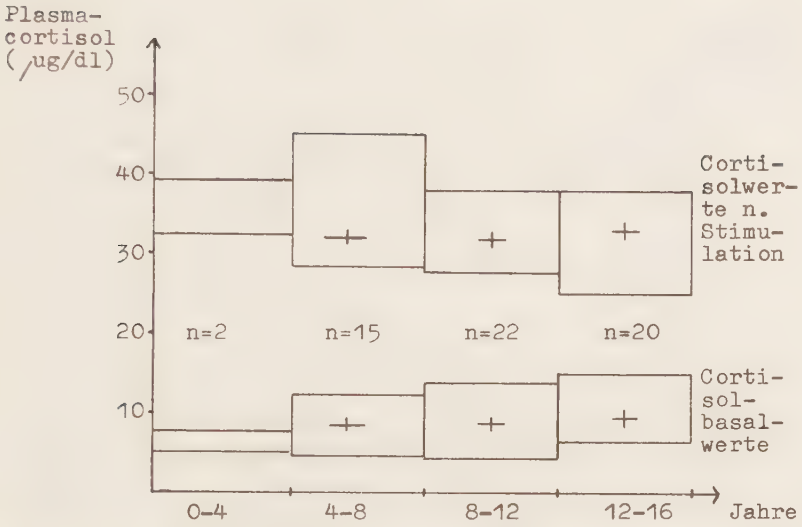

Abb. 7: Plasmacortisolwerte bei Blutabnahme nach 10 Uhr unter Berücksichtigung der 10. und 90. Perc. und besonderer Kennzeichnung des Medianwertes. Die Cortisolwerte der Jungen und Mädchen sind zusammengefaßt. In Gruppe I sind alle Werte aufgetragen.

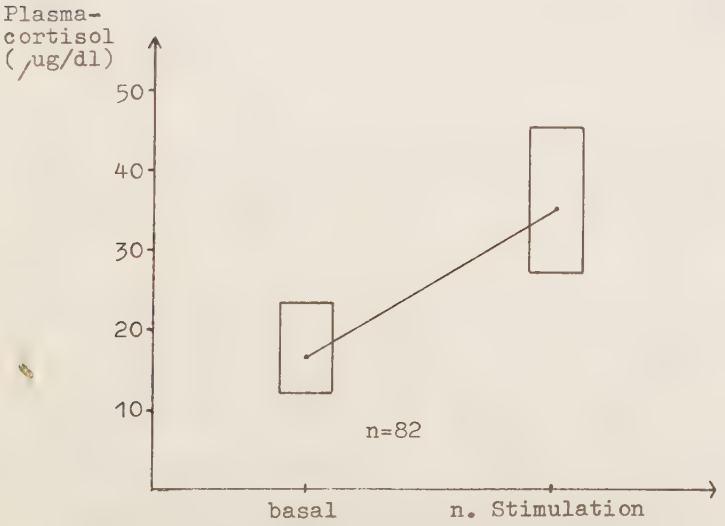

Abb. 8: Anstieg des Plasmacortisolspiegels bei Blutabnahme vor 10 Uhr

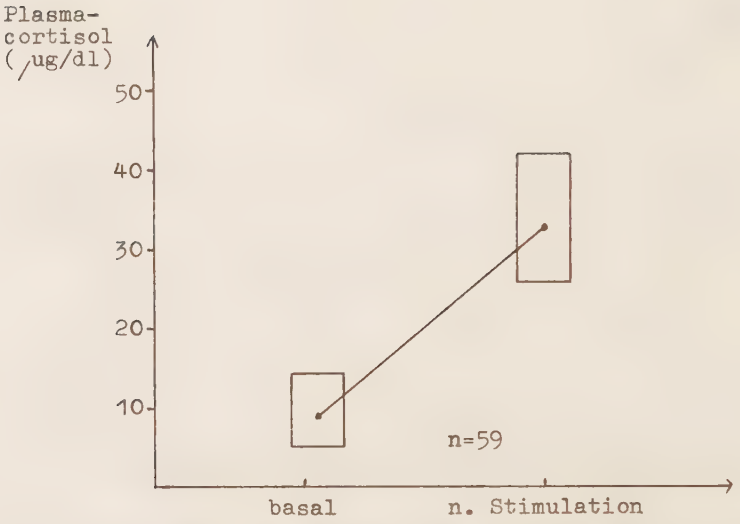

Abb. 9: Anstieg des Plasmacortisolspiegels bei Blutabnahme nach 10 Uhr

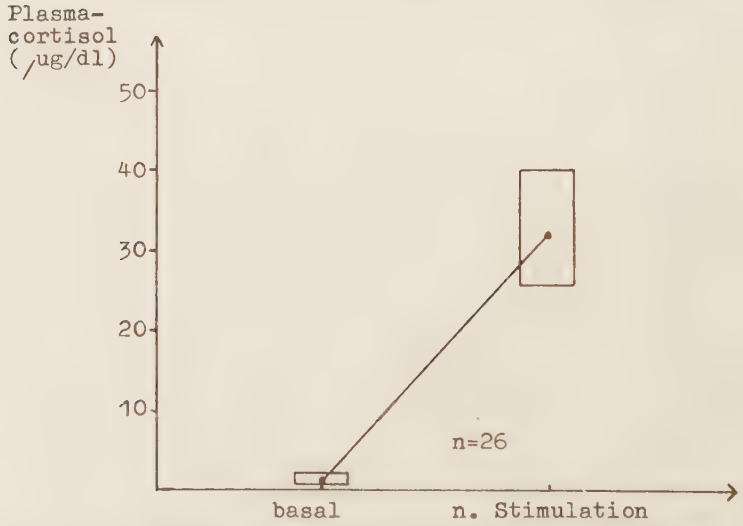

Abb. 10: Anstieg des Plasmacortisolspiegels im Dexamethasonhemm-/Synacthenstimulationstest

LITERATURVERZEICHNIS

1. Girard, J., Breitenstein, R., Vest, M.: Nebennierenfunktionsprüfung mit Synacthen bei Kindern. Schweiz. med. Wschr. 99, 1, 7-10, 1969.

2. Weber, Ch.: Über den Synacthen-Kurztest. Praxis 58, 27, 861-867, 1969.

3. Kappeler, H., Schwyzer, R.: Die Synthese eines Tetrakosapeptides mit der Aminosäuresequenz eines hochaktiven Abbauproduktes des beta-Kortikotropins (ACTH) aus Schweinehypophysen. Helv. chim. Acta 44, 1136, 1961.

4. Wiebel, J., Bierich, J. R.: Vergleichende Untersuchungen über die Wirksamkeit eines synthetischen Kortikotropins beta$^{1-24}$. Dtsch. med. Wschr. 90, 25, 1133-1135, 1965.

5. Karl, H. J.: Adrenocorticotrope Wirkung eines vollsynthetischen Tetrakosapeptids-beta$^{1-24}$-Kortikotropins-beim Menschen. Klin. Wschr. 41, 633, 1963.

6. Girard, J., Hirt, H. R., Bühler, U., Zachmann, M., Wick, H., Baumann, J. B., Stahl, M.: Longterm treatment with ACTH and allergenic properties of synthetic beta$^{1-24}$ corticotropin. Helv. paediat. Acta 26, 46, 1971.

7. Glass, D., Nuki, G., Daly, J. R.: Development of antibodies during long-term therapy with corticotropin in rheumatoid arthritis. II. Zink tetracosactrin (Depot Synacthen). Ann. rheum. Dis. 30, 593, 1971.

8. Abraham, G. E., Buster, J. D., Teller, R. C.: Radioimmunassay of plasma cortisol. Anal. Lett. 5, 757, 1972.

9. Farmer, R. W., Pierce, Ch. E.: Plasma cortisol determination: Radioimmunassay and competitive protein binding compared. Clin. chem. 20, 411, 1974.

10. De Moor, P., Raskin, M., Stenno, O.: Dosage fluorimetrique des Δ4-3 céto-11-hydroxycorticoides plasmatiques et urineires libres. Ann. Endocr. 21, 479, 1960.

11. Mattingly, D.: A simple fluorimetric method for the estimation of free 11- hydroxycorticoids in human plasma. J. clin. Path. 15, 374, 1962.

12. Bindlingmaier, F., Knorr, D.: Immunologische Methoden der Steroidbestimmung. Beckmann-Report, 1975.

13. Liddle, G. W.: Analysis of circadian rhythms in human adrenal secretory activity. Arch. Int. med. 117, 739, 1966.

14. Sachs, L.: Angewandte Statistik, 230-238, 5. Aufl., 1978.

15. Sachs, L.: Angewandte Statistik, 238-240, 5. Aufl., 1978.

16. Silber, R. H., Porter, C. C.: Determination of 17,21-dihydroxy-20-ketosteroids in urine and plasma. J. Biol. Chem. 210, 923, 1954.

17. Dörner, G., Stahl, F.: Eine einfache fluorimetrische Methode zur Routinebestimmung von freiem Cortisol und Corticosteron im Harn. Acta biol. med. germ. 12, 606, 1964.

18. Knorr, D., Messenzehl, D., Butenandt, O.: Nebennierenfunktionsdiagnostik im Kindesalter durch fluorimetrische 11-Hydroxycorticosteroid-(11-OHCS-)Bestimmung im Harn nach i.v. Gabe synthetischer ACTH-Präparate. Klin. Wschr. 47, 17, 912-915, 1969.

19. Murphy, B. E. P.: Some studies of the protein-binding of steroids and their application to the routine micro and ultramicro measurement of various steroids in body fluids by competitive protein-binding radioassay. J. of Endocr. and Metabolosm. 27, 973, 1967.

20. Köbberling, J., v. z. Mühlen, A.: Methodische Untersuchungen zur Bestimmung der Plasmakortikoide mit der Proteinbindungsmethode. Z. clin. Chem. und klin. Biochem. 10, 67-73, 1972.

21. Iturzaeta, N. F., Hillmann, D. A., Coll, E.: Measurement of plasma cortisol in children and adults: a comparison of the double isotope derivative assay, competitive protein-binding analysis and the modified competitive protein-binding analysis. J. of clin. Endocr. and Metabolism. 30, 185, 1970.

22. Rivarola, M. A., Mendilaharzu, H., Dahl, V., Heinrich, J. J., Spada, R. P., Mora, H., Bergadá, C., Cullen, M.: Pitfalls of functional tests for the establishment of the etiology of Cushing's syndrome in childhood and adolescence. J. of Endocr. and Metabolism. 30, 254, 1970.

23. Barnes, N. D., J$_o$seph, J. M., Atherden, Sh. M., Clayton, B. E.: Functional tests of adrenal axis in children with measurement of plasma cortisol by competitive protein binding. Arch. of Dis. in Childh. 47, 66, 1972.

24. Geisthövel, W., Kley, H. K., Krüskemper, H. G.: Adrenokortikotrope Wirkung des beta$^{1-23}$-Kortikotropins im Vergleich zu beta$^{1-24}$-Kortikotropin. Arzneim. Forsch. 23, 4, 1973.

25. Kley, H. K.: Such- und Schnellteste bei Nebennierenrindeninsuffizienz. Internist 17, 483-486, 1976.

LEBENSLAUF

Ich wurde am 14. September 1954 als Sohn des Landwirts Johann Großhauser und seiner Ehefrau Kreszenz, geb. Schmid, in Fernmittenhausen, Kreis Neuburg-Schrobenhausen, geboren.

1960 trat ich in die erste Klasse der Volksschule Hollenbach ein. Im September 1965 wechselte ich auf das Johann-Michael-Sailer-Gymnasium in Dillingen über, wo ich am 22. Juni 1974 das Abitur ablegte.

Nach 10 Monaten Dienst bei der Bundeswehr schrieb ich mich am 4. April 1975 an der Ludwig-Maximilians-Universität in München als ordentlicher Studierender der Medizin ein.

Am 7. April 1981 bestand ich dort den schriftlichen Teil, am 5. Juni 1981 den mündlichen Teil des dritten Abschnittes der ärztlichen Prüfung.